

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005 年10 月13 日 (13.10.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/095414 A1

- (51) 国際特許分類: C07D 493/04, A23L 1/30, A61K 31/36, A61P 3/04, 3/10, 9/00, 43/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2005/006733
- (22) 国際出願日: 2005 年3 月30 日 (30.03.2005)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2004-106289 2004 年3 月31 日 (31.03.2004) JP
特願2004-189719 2004 年6 月28 日 (28.06.2004) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): サントリー株式会社 (SUNTORY LIMITED) [JP/JP]; 〒5308203 大阪府大阪市北区堂島浜2 丁目1 番4 0 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小野 佳子 (ONO, Yoshiko) [JP/JP]; 〒5330022 大阪府大阪市東淀川区菅原1-13-18-802 Osaka (JP). 藤原 葉子 (FUJIWARA, Yoko) [JP/JP]; 〒1080073 東京都港区三田4-18-20-116 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 青木 篤, 外(AOKI, Atsushi et al.); 〒1058423 東京都港区虎ノ門三丁目5 番1 号 虎ノ門3 7 森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ADIPONECTIN INCREASING AGENT

(54) 発明の名称: アディポネクチン上昇剤

(57) Abstract: An adiponectin increasing agent which contains sesamin and/or episesamin or an analogue of either as an active ingredient.

(57) 要約: セサミン及び／又はエピセサミン、あるいはそれらの類似体化合物を有効成分とするアディポネクチン上昇剤。

WO 2005/095414 A1

明 細 書

アディポネクチン上昇剤

技術分野

本発明は、セサミン及び／又はエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を有効成分とするアディポネクチン上昇作用を有する組成物に関する。

背景技術

脂肪組織はこれまで余ったエネルギーをため込み、必要なときに供給するという、エネルギーの貯蔵庫としての役割しか考えられてこなかった。しかしながら、生活習慣病を中心とした代謝異常症候群の病態を考えるうえで、脂肪組織の重要性が、近年、クローズアップされるようになってきた。

生活習慣病の根本原因となる肥満は脂肪細胞の増大が主体である。脂肪細胞分化による脂肪細胞の数の増加は思春期以降生理的にはほとんど起きないため、脂肪組織の増大はもっぱら一個一個の脂肪細胞が肥大化することによって生じていると考えられている。近年の研究によって、脂肪細胞は余剰のエネルギーを中性脂肪の形で貯蔵するという機能に加え、脂肪組織はアディポネクチン、レプチン、腫瘍壊死因子(TNF- α)、レジスチン、遊離脂肪酸(FFA)やプラスミノーゲンアクチベーター(PAI-1)などの種々のアディポサイトカインを産生・分泌しており、このうち肥大した脂肪細胞からはTNF- α 、レジスチン、FFAが多量に産生・分泌され、これらが骨格筋や肝臓でインスリン抵抗性を惹起することが明らかとなってきた(日薬理誌、122、317-324、2003)。

TNF- α は脂肪細胞や肝細胞においてTNF- α 受容体に結合しスフィンゴミエリナーゼの活性を介し、インスリン受容体の基質であるIRS-1(insuline receptor substrate-1)のセリンをリン酸化することでインスリン作用を減弱させる(Science、259、87-91、1993)。

一方、アディポネクチンは、脂肪細胞に高発現する脂肪組織特異的な30kDaの分泌タンパク質で、ヒト血中蛋白質の0.01%を占めることが知られている(Biochem Biophys Res Commun、221、286-289、1996、257、79-83、1999)。健常人のアディポネクチンの血中濃度は1.9~17.0mg/mlといわれており、主として小型脂肪細胞から分泌され、脂肪細胞の肥大化が進むにつれ、その分泌量は低下し、血中濃度も低下する。

つまり、ヒトでは、PAI-1、TNF- α 、レプチンの血中濃度がいずれも肥満・脂肪蓄積で上昇するのに対して、アディポネクチンの血中濃度は肥満者において低下し、逆に減量によって増加する(Biochem Biophys Res Commun、257、79-83、1999)。特に、アディポネクチンは、肥満合併症発症と強く関連する内臓脂肪の蓄積とともにその血中濃度が低下することがわかってきた。

また、冠動脈疾患では、肥満度と独立して血中アディポネクチン濃度が低下することも確認されている(Circulation、100、2473-2476、1999)。糖尿病においても、血中アディポネクチン濃度は、糖尿病の重症度に比例して低下し(Arterioscler Thromb Vasc Biol、20、1595-1599、2000)、さらに、サルを用いた実験で、過食・運動不足により発症する肥満2型糖尿病の発症過程において、インスリン抵抗性の指標である高インスリン血症および糖尿病が発症する以前に、低アディポネクチン血症が生じることが報告されている(Diabetes、50、1126-1133、2001)。

ヒト遺伝子変異による原発性低アディポネクチン血症では、アデ

ィポネクチンの164番目のイソロイシンがスレオニンに変異した9例では、血中アディポネクチン濃度が正常の25～30%であり、この9例中7例が糖尿病、2例が境界型糖尿病を示し、9例中6例が心筋梗塞、狭心症などの冠動脈疾患患者であった。また原発性低アディポネクチン血症がインスリン抵抗性、冠動脈疾患につながることを示されている(Diabetes、51、2325-2328、2002)。

さらに、腎不全例では高率に心血管合併症を伴うが、血中アディポネクチン濃度が低い群は、有意にその後の心血管合併症発症率が高いことも報告されている(Circulation、102、1296-1301、2000)。アディポネクチンノックアウトマウスの解析では、高脂肪・高シヨ糖食2週間の短期飼育で、強いインスリン抵抗性の糖尿病を示し、この強いインスリン抵抗性は、アデノウイルスによる血中アディポネクチンの補充により野生型のレベルまで改善することが確認された(Nature Med 8、731-737、2000)。

ヒト2型糖尿病患者が、健常人に比べ3倍も心筋梗塞になる恐れが大きいことも報告されている(Am J Med、105(1A)、4S-14S、1998)ことから、血中アディポネクチン濃度の低下が糖尿病を発症し、ひいては、心筋梗塞の発症を引き起こすことが確実なものになりつつある(蛋白質 核酸 酵素47(14)、1896-1903、2003)。

したがって、脂肪細胞の小型化を促進し、肥大脂肪細胞の蓄積を抑制することにより、アディポネクチンの産生・分泌の亢進に伴う血中アディポネクチンの上昇とTNF- α などのインスリン抵抗性惹起作用を有するサイトカインの分泌を抑制することが生活習慣病の予防や改善のために非常に重要であることが明らかとなってきた。つまり、小型脂肪細胞の分化を誘導し、肥大した脂肪細胞の蓄積を抑制することにより、肥大した脂肪細胞が分泌するTNF- α の産生を抑制したり、アディポネクチン産生増加により血中アディポネクチン

濃度を上昇させることができれば、インスリン抵抗性のみならず糖尿病性大血管症や冠動脈疾患などの心臓病を予防したり、あるいは、これら疾患の症状を改善したりすることが可能であると考えられる。

最近、PPAR γ (peroxisome proliferator activated receptor) アゴニストであるチアゾリジン誘導体が分化した脂肪細胞から新しく分化した小型脂肪細胞を増加させると共に、インスリン抵抗性惹起因子を過剰産生する肥大脂肪細胞をアポトーシスにより減少させ、インスリン抵抗性を改善させることが示された(J Clin Invest, 101, 1354-1361, 1998)。また、チアゾリジン誘導体が耐糖能異常患者の血中アディポネクチン濃度を上昇させることが報告されている(Diabetes, 50, 2094-2099, 2001)。しかしながら、小型脂肪細胞を誘導し増加させたり、血中アディポネクチン濃度を上昇させる天然物由来の安全な飲食物ならびに組成物は、これまで報告されていない。

セサミンはゴマに含まれる主要なリグナン化合物の一種で、ゴマ中には0.1-1%程度含まれている。セサミンは $\Delta 5$ 不飽和化酵素阻害作用 (S Shimizu et al, J. Am. Oil Chem. Soc. 66, 237-241 (1989), S. Shimizu et al, Lipid, 26,512 (1991))、抗酸化作用 (特開平05-051388および特願平11-327924)、抗高血圧作用 (特開平08-268887)、肝機能改善効果 (特開平04-099331)、コレステロール低下作用 (特開平04-159221)などを有することが知られている。また、コレステロール低下作用は α -トコフェロールの共存下で増強される(A. Nakabayashi et al.: Internal. J. Nutr. Res., 65, 162 (1995)、特開平04-368326)。

脱脂胡麻から抽出されたメタノール可溶で且つブタノール可溶の画分、セサミンおよびセサモールが糖・脂質代謝を活性化する作用

を有する（特開平11-246427）。ここでは前駆脂肪細胞（繊維芽細胞）から脂肪細胞への分化促進作用について評価しており、脂肪細胞への分化促進により細胞内トリグリセリド（TG）量やグリセロール-3-リン酸脱水素酵素活性が増加することが示されている。また、セサミン存在下でインスリンによるグルコースの取り込みが上がることを示し、糖・脂質代謝活性化剤としての記載がなされている。ここでは実施例においてデキサメタゾンやインスリンが前駆脂肪細胞の分化促進剤として用いられている。

しかしながら、デキサメタゾンやインスリンは肥大した脂肪細胞を蓄積させ、アディポネクチンの分泌量を低下させることが示されている（Biochem Biophys Res Commun、290、1084-1089、2002）。したがって、ここでの結果から、脱脂胡麻から抽出されたメタノール可溶で且つブタノール可溶の画分、セサミンおよびセサモールが脂肪細胞のサイズに与える影響や脂肪細胞が分泌するアディポサイトカインへの影響を想定することはできなかった。つまり、セサミンの前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化誘導作用は示されているが、アディポネクチンを産生することを特徴とする正常な小型脂肪細胞の蓄積・増加させる作用については調べたことはなく、報告はなされていない。

特許文献1：特開平05-051388号公報

特許文献2：特願平11-327924号公報

特許文献3：特開平08-268887号公報

特許文献4：特開平04-099331号公報

特許文献5：特開平04-159221号公報

特許文献6：特開平04-368326号公報

特許文献7：特開平11-246427号公報

非特許文献1：日薬理誌、122、317-324、2003

非特許文献 2 : Science、259、87-91、1993

非特許文献 3 : Biochem Biophys Res Commun、221、286-289、
1996

非特許文献 4 : Biochem Biophys Res Commun、257、79-83、19
99

非特許文献 5 : Circulation、100、2473-2476、1999

非特許文献 6 : Arteriosclea Thromb Vasc Biol、20、1595-1
599、2000

非特許文献 7 : Diabetes、50、1126-1133、2001

非特許文献 8 : Diabetes、51、2325-2328、2002

非特許文献 9 : Circulation、102、1296-1301、2000

非特許文献 10 : Nature Med 8、731-737、2000

非特許文献 11 : Am J Med、105(1A)、4S-14S、1998

非特許文献 12 : 蛋白質 核酸 酵素47(14)、1896-1903、200
3

非特許文献 13 : J Clin Inverst、101、1354-1361、1998

非特許文献 14 : Diabetes、50、2094-2099、2001

非特許文献 15 : S Shimizu et al, J. Am. Oil Chem. Soc. 6
6, 237-241 (1989)

非特許文献 16 : S. Shimizu et al, Lipid, 26,512 (1991)

非特許文献 17 : Nakabayasi et al.:Internal. J. Nutr. Res
. , 65, 162 (1995)

非特許文献 18 : Biochem Biophys Res Commun、290、1084-10
89、2002

発明の開示

本発明は、脂肪細胞から小型脂肪細胞への分化誘導と肥大脂肪細

胞の蓄積を抑制し、TNF- α の産生量を抑制し、且つアディポネクチン産生量を上昇させ、血中アディポネクチン濃度を上昇させることのできる、天然物で安全な組成物を提供することにある。このように、脂肪細胞から小型脂肪細胞への分化を誘導し、肥大脂肪細胞の蓄積を抑制し、また、TNF- α の産生量を抑制し、且つアディポネクチン産生量を上昇させることで血中アディポネクチン濃度を上昇させ、インスリン抵抗性のみならず糖尿病性大血管症や冠動脈疾患などの心臓病を予防や改善し、ならびに血中アディポネクチン低下により生じる疾患の予防や改善ができる。

脂肪細胞が肥大化するとインスリン抵抗性を惹起するTNF- α の産生が上昇する一方でアディポネクチンの分泌量が低下し、結果としてインスリン抵抗性や様々な生活習慣病の原因となることが知られている。脂肪細胞の小型化を誘導し、肥大した脂肪細胞の蓄積を抑制すれば、これらのアディポサイトカインのアンバランスが改善され、インスリン抵抗性や生活習慣病の予防や改善につながることを予測できる。そこで、本発明者は脂肪細胞の小型化を誘導することができる食品、食品成分、伝承的な医薬品に関して鋭意研究を行った結果、ゴマリグナンの一種であるセサミンおよび／またはその類縁体が、脂肪細胞の小型化を誘導し、肥大した脂肪細胞の蓄積を抑制すること、さらにセサミンおよび／またはその類縁体がアディポネクチンの産生を上昇させて、血中のアディポネクチン濃度を上昇させ、且つTNF- α の産生を抑制する作用があることを明らかにし、本発明を完成させた。

したがって本発明はセサミンおよび／またはその類縁体を有効成分とする脂肪細胞の小型化を誘導し、肥大脂肪細胞の蓄積を抑制する飲食品や組成物およびその製造方法を提供しようというものである。さらに本発明はセサミンおよび／またはその類縁体を有効成分

とするアディポネクチン上昇剤あるいはアディポネクチン上昇作用を有する飲食品や組成物およびその製造方法を提供しようというものである。本発明は更に、セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を有効成分とするTNF- α を産生する肥大脂肪細胞の蓄積抑制作用を有する組成物を提供する。

図面の簡単な説明

図1は脂肪細胞のサイズ（小型化）に及ぼすセサミンの影響を示す図である。

図2は脂肪細胞のアディポネクチンのmRNA発現に対するセサミンの増強効果を示す図である。

図3は脂肪細胞のTNF- α のmRNA発現に対するセサミンの抑制効果を示す図である。

図4は脂肪細胞培養液中のアディポネクチン量に対するセサミンの影響を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下に本発明の詳細について示す。

現在、生活習慣病や糖尿病の根本原因は肥大脂肪細胞といわれている。肥大した脂肪細胞が分泌するアディポサントカインのなかでTNF- α はインスリン抵抗性を惹起することが知られている。一方、小型脂肪細胞が分泌する善玉アディポサイトカインであるアディポネクチンはインスリン抵抗性を改善する。したがって、脂肪細胞の肥大を抑制し、小型化させて、正常なアディポサイトカイン分泌のバランスを保ち、血中のアディポネクチン濃度を上昇させることにより、インスリン抵抗性や生活習慣病などの疾病を予防することが重要である。

そこで、本発明者らは、脂肪細胞のサイズに与えるセサミンの影響を調べた。また、脂肪細胞の培養液中のアディポネクチン産生量をEnzyme-linked immunosorbent assayにより、さらに、細胞中のアディポサイトカインの遺伝子発現量についてはRT-PCR法により調べた。また、血中アディポネクチン濃度への影響については、Zucker fattyラットを用いて検証した。

その結果、セサミンをあらかじめ分化誘導した3T3-L1細胞培養液に添加することにより脂肪細胞の小型化が誘導され、アディポネクチンのmRNAの上昇とアディポネクチン産生量の増加、TNF- α のmRNA発現量が低下することを確認した。さらに、セサミンを継続摂取させることで血中アディポネクチン濃度が上昇することを見出し、本発明を完成させた。

従って本発明は、セサミンおよび／またはその類縁体を有効成分とする、肥大脂肪細胞の蓄積を根本原因とした肥満や生活習慣病の予防及び改善しうる飲食品、健康食品、医薬品や飼料及びそれらの製造法を提供しようとするものである。また本発明はアディポネクチンの上昇剤およびアディポネクチンの上昇作用を有する飲食品、健康食品、医薬品や飼料及びその製造法を提供しようとするものである。より詳細には、肥大細胞が分泌するTNF- α によるインスリン抵抗性の予防や改善、小型脂肪細胞の分泌するアディポネクチン上昇によるインスリン抵抗性、糖尿病性大血管症、冠動脈疾患などを予防および改善、血中アディポネクチンの低下により発症する様々な疾患を予防および改善しうる飲食品、健康食品、医薬品や飼料及びその製造方法を提供しようとするものである。

本発明はセサミンに限定されず、セサミンの類縁体においても適用される。本発明におけるセサミンおよびその類縁体とは、例えば特開平4-9331号公報に記載されたジオキサビシクロ〔3.3.0〕オク

タン誘導体を意味し、具体的には、セサミン、セサミノール、エピセサミン、エピセサミノール、セサモリン、2-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-6-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ [3.3.0] オクタン、2,6-ビス (3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ [3.3.0] オクタン、2-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-6-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェノキシ)-3,7-ジオキサビシクロ [3.3.0] オクタン、2-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-6-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ [3.3.0] オクタン、2-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-6-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ [3.3.0] オクタン、および2,6-ビス (3,4-ジヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ [3.3.0] オクタンが例示される。さらに、セサミンおよびその類縁体の配糖体であっても、さらに、セサミンおよびその類縁体の代謝物であっても利用できる。

また、本発明におけるセサミンおよびその類縁体は、例えば特開平4-9331号公報に記載された方法によって得られ、これらは抽出物のまま、または必要に応じて精製品として使用することができる。

本発明におけるセサミンおよび／またはその類縁体を飲食品、健康食品や飼料として用いる場合、セサミンおよび／またはその類縁体を含有してなる健康飲食品のみならず、セサミンおよび／またはその類縁体を含有してなる食品添加物も含まれる。健康飲食品として用いられる場合、例えば、乾燥食品、サプリメント、清涼飲料水、ミネラルウォーター、アルコール飲料等に配合することができるが、これに限定されるものではない。

本発明のセサミンおよび／またはその類縁体を予防薬や治療薬と

して用いる場合、製剤としては固体でも液体でもよく、散剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、座剤、顆粒剤、内用液剤、懸濁剤、乳剤、ローション剤等を挙げることができる。また、本発明の製剤としては、製剤上許容される賦形剤を加えることができる。賦形剤としては、希釈剤、香料剤、安定化剤、懸濁剤用滑沢剤、結合剤、保存剤、錠剤用崩壊剤等単独で、または、組み合わせて使用することができる。

本発明のセサミンおよび／またはその類縁体（有効成分）が脂肪細胞の小型化を誘導し、アディポネクチンの産生を上昇、あるいはTNF- α の産生を抑制させるための有効量は例えば、一日あたり0.2～500mg、好ましくは0.5～100mg、より好ましくは1～60mgである。この有効量は、要因、疾患の種類、患者の特性、年齢、体重、症状の程度、投与形態によって異なる。

本発明の飲食物や飼料および医薬品の有効成分であるセサミンおよび／またはその類縁体は、脂肪細胞の小型化を誘導し、アディポネクチンの産生を増大、あるいはTNF- α の産生を抑制させるためには、できれば継続して長期的に摂取することが望ましい。摂取の時間帯や形態は限定されず、さまざまな機会に摂取することにより、脂肪細胞の小型化を誘導し、アディポネクチンの産生による血中アディポネクチン濃度の上昇作用を発揮しうる。

実施例

以下、実施例及を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例 1. 脂肪細胞の小型化の誘導作用とアディポネクチンとTNF- α の遺伝子発現量への影響

マウス由来の3T3-L1細胞をインスリン、デキサメサゾンおよびイ

ソブチルキサンチンを含む培養液で42時間処理し、脂肪細胞へと分化させた。その後、培養液を取り除き、直ちにセサミンを含まない培養液（コントロール）あるいはセサミンを最終濃度50 μ M含む培養液（セサミン）を添加し、48時間培養後、培養液を交換し、さらに6日間培養した。細胞の培養はCO₂ガス5%-air95%、温度37℃にコントロールされたインキュベータ内でおこなった。培養液を除いた後、Oil Red O染色にて脂肪細胞のサイズの変化をみた。さらに、細胞のアディポネクチンとTNF- α のそれぞれのmRNA量をCYBR-Greenを使った定量RT-PCR法（BMC Biotechnol. 3, 18, 2003）によって測定した。

結果：脂肪細胞に分化誘導処理をした3T3-L1細胞にセサミンを添加してさらに8日間培養することによって、多数の小さな脂肪細胞が誘導されることがわかった（図1）。矢印Aで示したようにコントロール群では大きなサイズの脂肪細胞が認められた。一方、セサミンを添加した群では小さな脂肪細胞がたくさん認められた（矢印B）。濃く（赤く）見えるところは脂肪がたまっているところで、コントロール群では、一つの細胞の中にいくつもの脂肪滴が含まれているのに対し、セサミン処理群では一つの細胞内に脂肪滴をたくさん持つ肥大した脂肪細胞は認められなかった。脂肪細胞のアディポネクチンのmRNA量はコントロール群の7倍に上昇した（図2）。TNF- α のmRNA量は低下することがわかった（図3）。

以上の実験結果から、セサミンが脂肪細胞の小型化を誘導し、肥大脂肪細胞の蓄積を抑制したことが示された。また、アディポネクチンのmRNA量が増加し、TNF- α のmRNA量が低下したことが示された。

実施例2. 脂肪細胞のアディポネクチン産生量への影響

マウス由来の3T3-L1細胞をインスリン、デキサメサゾンおよびイ

ソブチルキサンチンを含む培養液で42時間処理し、脂肪細胞へと分化させた。その後、培養液を取り除き、直ちにセサミンを含まない培養液（コントロール）あるいはセサミンを最終濃度50 μ M含む培養液（セサミン）を添加し、48時間培養後、培養液を交換し、さらに6日間培養した。細胞の培養はCO₂ガス5%-air95%、温度37℃にコントロールされたインキュベータ内でおこなった。培養液中のアディポネクチンの量をEnzyme-linked immunosorbent assay（Mouse/Rat Adiponectin ELISA Kit、大塚製薬）により測定した。

結果：脂肪細胞に分化誘導処理をした3T3-L1細胞にセサミンを添加することによって、細胞上清中のアディポネクチン産生量は1.6倍に上昇した（図4）。

実施例3. 血中アディポネクチン濃度の上昇作用

Zucker Fattyラット（crj; (ZUC) -fa/fa）♂、5週齢を日本チャールスリバー社より購入し、試験環境に馴化させた後、順調な発育を見せた動物を試験に供した。1群5匹で2群に分け、1群はコントロール群として、AIN-93G（日本クレア社製、成長期用飼料）を、2群にはAIN-93Gにセサミンを0.1%配合した飼料を4週間自由に摂取させた。4週間後に一晩絶食下で血液を採取し、血清を分離した。血清中のアディポネクチン濃度はEnzyme-linked immunosorbent assay（Mouse/Rat Adiponectin ELISA Kit、大塚製薬株式会社）により測定した。

その結果、セサミン添加食を1ヶ月間与えたラットの血中アディポネクチン濃度は6.53 μ g/mlとコントロール食を摂取したラット（6.06 μ g/ml）に比べ上昇していることが明らかとなった。

この結果はセサミンが脂肪細胞の小型化を誘導し、肥大脂肪細胞の蓄積を抑制した結果、アディポネクチンの産生・分泌量が増加し、血中アディポネクチン濃度が上昇したことを示すものである。

表1 Zucker fattyラットの血中アディポネクチン濃度

群	血中アディポネクチン量
	($\mu\text{g} / \text{ml}$)
コントロール食	6.06 \pm 0.48
セサミン 0.1%食	6.53 \pm 0.54

以上の実験結果から、セサミンが脂肪細胞の小型化を誘導し、肥大脂肪細胞の蓄積を抑制した結果、アディポネクチンの産生・分泌量が増加したことが示された。

製剤例 1. バター

セサミン	1.2g
バター脂肪	100g
酢酸トコフェロール	1.2g

バター製造工程の攪拌操作（チャーニング）でバターミルクが除かれたバター脂肪100gにセサミンを1.2g、さらに酢酸トコフェロールを1.2gを加えて練圧操作（ワーキング）を行い均等な組織として本発明組成物含有のバターを得た。

製剤例 2. 顆粒剤

セサミン/エピセサミン混合物	0.25g
酢酸トコフェロール	0.25g
無水ケイ酸	20.5g
トウモロコシデンプン	79g

を均一に混合した。この化合物に10%ヒドロキシプロピルセルロース・エタノール溶液100mlを加え、常法通りねつ和し、押し出し、乾燥して顆粒剤を得た。

製剤例 3. 錠剤

セサミン	3.5g
酢酸トコフェロール	0.5g
無水ケイ酸	20g
微結晶セルロース	10g
ステアリン酸マグネシウム	3g
乳糖	60g

を混合し、単発式打錠機にて打錠して経7mm、重量100mgの錠剤を製造した。

製剤例 4. カプセル剤

ゼラチン	70.0%
グリセリン	22.9%
パラオキシ安息香酸メチル	0.15%
パラオキシ安息香酸プロピル	0.51%
水 適量	
計	100%

上記成分からなるソフトカプセル剤皮の中に、以下に示す組成物を常法により充填し、1粒200mgのソフトカプセルを得た。

セサミン/エピセサミン混合物	10.8
小麦ビーズワックス	30
α -トコフェロール	20
パーム油	10
小麦胚芽油適宜	
計	100%

製剤例 5. ドリンク剤

呈味：DL-酒石酸ナトリウム	0.1g
コハク酸	0.009g
甘味：液糖	800g

酸味：クエン酸	12g
ビタミン：ビタミンC	10g
セサミン	1g
ビタミンE	30g
シクロデキストリン	5g
香料	15ml
塩化カリウム	1g
硫酸マグネシウム	0.5g

上記成分を配合し、水を加えて10リットルとした。このドリンク剤は、1回あたり約100mlを飲用する。

産業上の利用可能性

セサミンおよび／またはその類縁体を摂取することにより、脂肪細胞の小型化を誘導し、肥大脂肪細胞の蓄積を抑制し、アディポネクチンの産生を上昇させ、TNF- α の分泌を抑制することができる。また、この作用により血中のアディポネクチン濃度を上昇させることができる。このような脂肪細胞のサイズの調節作用によるアディポサイトカインの分泌調節は、肥大脂肪細胞に起因した生活習慣病を予防・緩和する点において、極めて有用であるばかりでなく、血中のアディポネクチン低下により生じる種々の疾患の予防・緩和に対しても極めて有用である。

請 求 の 範 囲

1. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を有効成分とするアディポネクチン上昇剤。

2. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を有効成分とするアディポネクチン上昇作用を有する組成物。

3. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を有効成分とする小型脂肪細胞の誘導作用を有する組成物。

4. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を有効成分とするTNF- α を産生する肥大脂肪細胞の蓄積抑制作用を有する組成物。

5. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を摂取することにより、アディポネクチンを上昇させる請求項2の方法。

6. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を摂取することにより、小型脂肪細胞の誘導を促進する請求項3の方法。

7. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を摂取することにより、TNF- α を産生する肥大脂肪細胞の蓄積を抑制する請求項4の方法。

8. 請求項1から4に記載の組成物が飲食物である組成物。

9. 請求項1から4に記載の組成物が医薬品である組成物。

10. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を投与することによりアディポネクチンを上昇させる方法。

11. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を投与することにより小型脂肪細胞を誘導させる方法。

12. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を投与することによりTNF- α を産生する肥大脂肪細胞の蓄積を抑制する方法。

13. アディポネクチン上昇作用を有する組成物の製造のためのセサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物の使用。

14. 小型脂肪細胞の誘導作用を有する組成物の製造のためのセサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物の使用。

15. TNF- α を産生する肥大脂肪細胞の蓄積抑制作用を有する組成物の製造のためのセサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物の使用。

16. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を摂取することにより、アディポネクチンを上昇させる請求項2の使用。

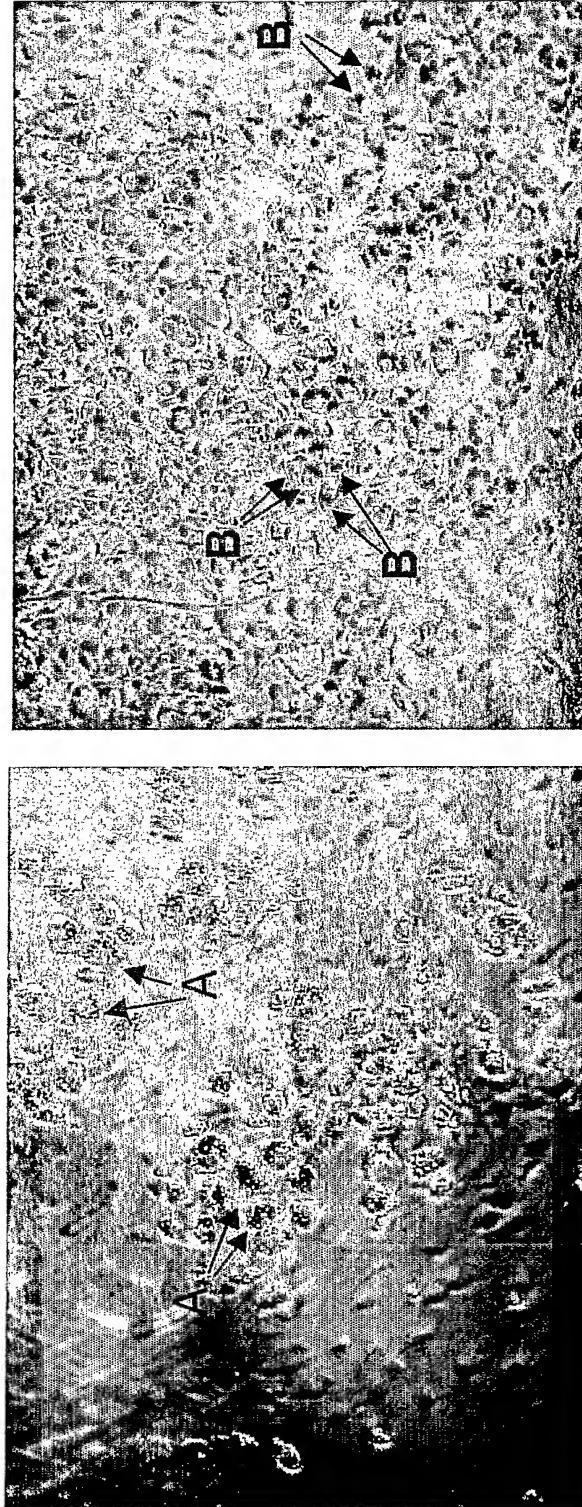
17. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を摂取することにより、小型脂肪細胞の誘導を促進する請求項3の使用。

18. セサミン及び／またはエピセサミン、あるいはそれらの類縁体化合物を摂取することにより、TNF- α を産生する肥大脂肪細胞の蓄積を抑制する請求項4の使用。

19. 組成物が飲食物である請求項1から4に記載の使用。

20. 組成物が医薬品である請求項1から4に記載の使用。

Fig.1



コントロール

セサミン

Fig. 2

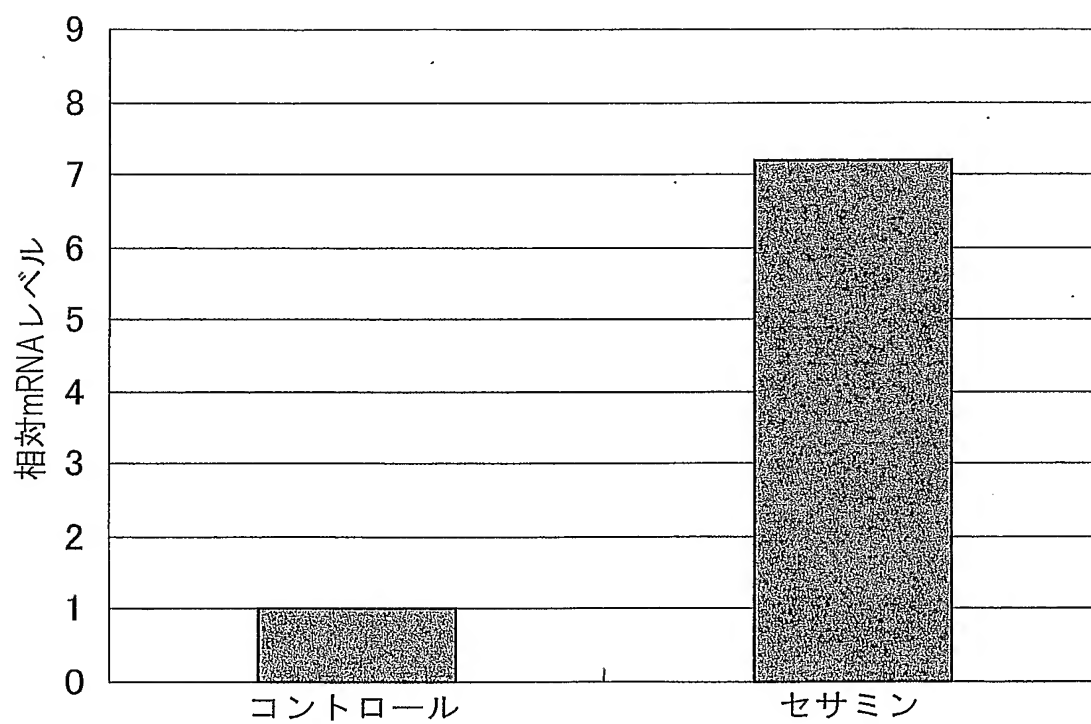


Fig. 3

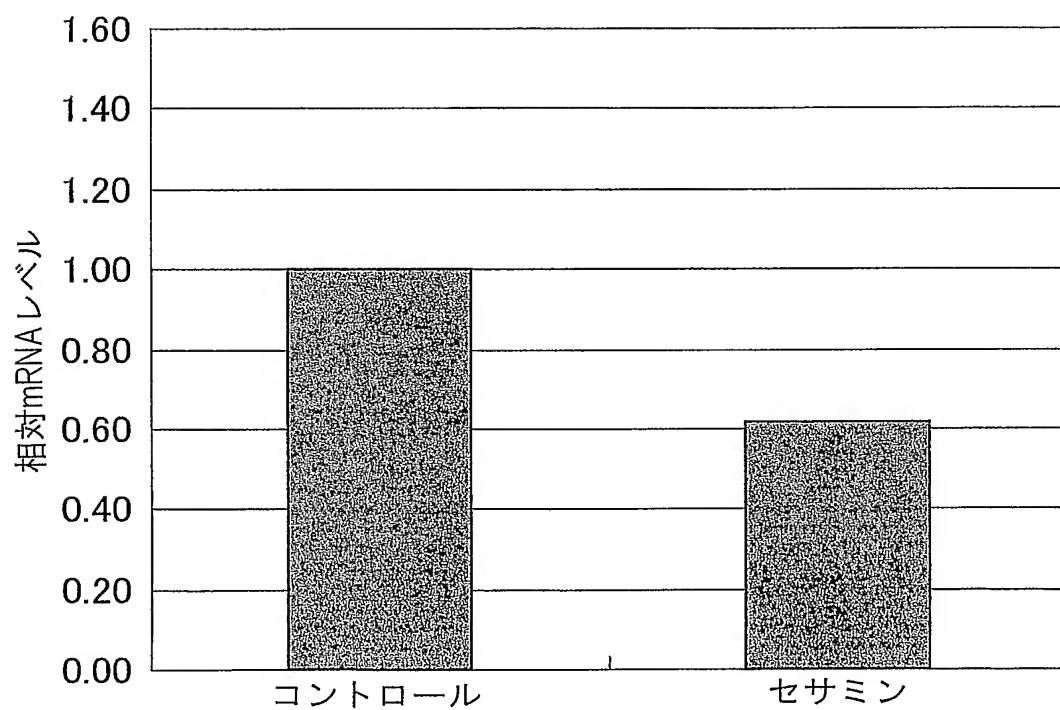
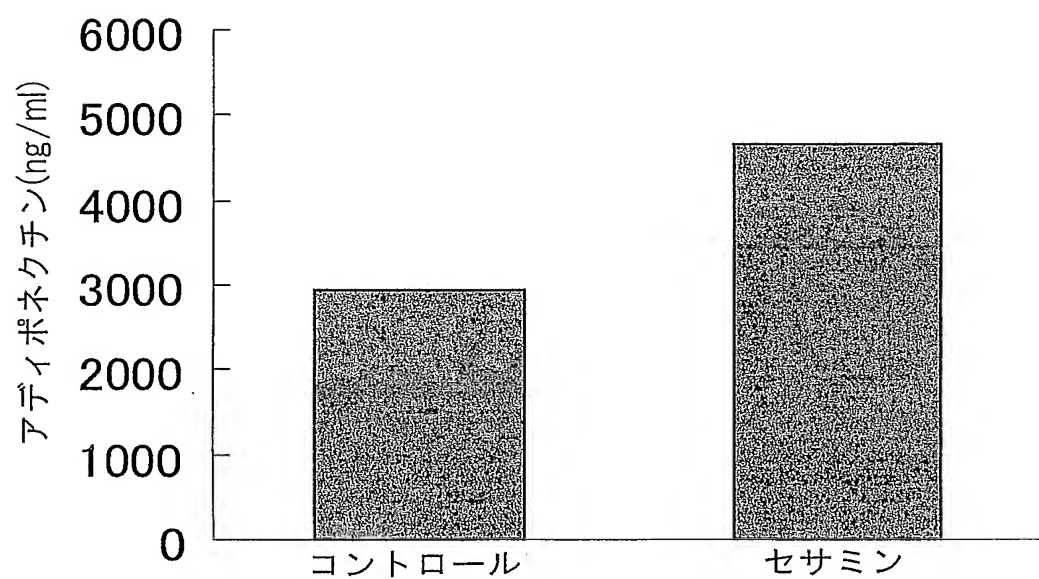


Fig. 4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006733

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C07D493/04, A23L1/30, A61K31/36, A61P3/04, 3/10, 9/00, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C07D493/04, A23L1/30, A61K31/36, A61P3/04, 3/10, 9/00, 43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 11-246427 A (Kadoya Seiyu Kabushiki Kaisha), 14 September, 1999 (14.09.99), Full text; particularly, Par. Nos. [0015], [0016]; example 2 (Family: none)	1-4, 8, 9, 13-15, 19, 20
X	JP 6-227977 A (Suntory Ltd.), 16 August, 1994 (16.08.94), Full text; particularly, Par. No. [0021]; example 2 (Family: none)	1-4, 8, 9, 13-15, 19, 20
X	JP 8-268887 A (Suntory Ltd.), 15 October, 1996 (15.10.96), Full text; particularly, Par. No. [0022]; example 2 & EP 729753 A1 & US 5889046 A	1-4, 8, 9, 13-15, 19, 20



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 June, 2005 (24.06.05)

Date of mailing of the international search report

12 July, 2005 (12.07.05)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006733

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 5-7, 10-12, 16-18
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 5 to 7, 10 to 12 and 16 to 18 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of the PCT Rule 39.1(iv), to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ C07D493/04, A23L1/30, A61K31/36, A61P3/04, 3/10, 9/00, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ C07D493/04, A23L1/30, A61K31/36, A61P3/04, 3/10, 9/00, 43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS(STN), CAlplus(STN), EMBASE(STN), MEDLINE(STN), REGISTRY(STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 11-246427 A (かどや製油株式会社) 1999.09.14, 文献全体、特に【0015】、【0016】、実施例2 (ファミリーなし)	1-4、8、 9、 13-15、 19、20
X	JP 6-227977 A (サントリー株式会社) 1994.08.16; 文献全体、特に【0021】、実施例2 (ファミリーなし)	1-4、8、 9、 13-15、 19、20

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

24.06.2005

国際調査報告の発送日

12.7.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

刈野 留香

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

4C

3336

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 8-268887 A (サントリー株式会社) 1996.10.15, 文献全体、特に【0022】、実施例2 & EP 729753 A1 & US 5889046 A	1-4、8、 9、 13-15、 19、20

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 5-7, 10-12, 16-18 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲5-7, 10-12, 16-18は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。